УДК 576.895.775,616,981.49

ОБ АДАПТИРОВАННОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ МЫШИНОГО ТИФА (SALMONELLA TYPHIMURIUM) К ОРГАНИЗМУ БЛОХ CERATOPHYLLUS CONSIMILIS WAGN.

Р. В. Гребенюк, П. А. Чиров и А. М. Кадышева

Институт биологии Академии наук Киргизской ССР, Фрунзе

В условиях индивидуального кормления блох C. consimilis через капилляр взвесью S. typhimurium установлена способность этих кровососов заражаться и длительно хранить возбудителя. Оптимальной для размножения микробов в их организме являлась доза $2\cdot10^4$ микробоных клеток. Однако инокуляция возбудителя при кровососании на здоровых белых мышах наблюдалась лишь при массивном инфицировании $2\cdot10^5$ м. к., но в отдаленные от заражения сроки.

В период с 1966 по 1971 гг. нами на листерионосительство обследовалось 745 грызунов различных видов. В результате выделены один штамм листерий от ондатры, 8 — от лесных мышей, 8 — от домовых мышей и 1 — от полевки обыкновенной. Кроме листерий, у грызунов нередко обнаруживались и салмонеллы. Чаще встречались S. typhimurium (18 культур), но находили также S. enteritidis — 12 и S. pullorum — 1. В связи с тем что блохи являются частыми паразитами грызунов, нами предприняты попытки выяснить их роль в хранении и передаче салмонелл своим хозяевам — грызунам.

В публикациях Йоффа и Покровской (1933, 1935) и в монографии Иоффа (1941) содержатся сведения о том, что блохи заражались при питании на инфицированных S. spermophilinus (=S. typhimurium) грызунах в 66% случаев. Несмотря на интенсивное размножение микробов, спустя сутки после заражения, блохи в течение 3—4 дней постепенно освобождались от возбудителя с выделением экскрементов. Лишь две блохи хранили возбудителя 5 и 12 дней. Передачи через укус получить не удалось.

В экспериментах Эски с соавторами (Eskey and oth., 1949) крысиные блохи Ceratophyllus fasciatus и Xenopsylla cheopis воспринимали S. enteritidis при питании на инфицированных грызунах. Микробы размножались в организме насекомых и, накапливаясь в преджелудке, мешали его нормальной функции, что, по-видимому, и обеспечивало эффективную передачу возбудителя при кровососании на белых мышах. Аналогичные данные получены и в опытах Varela и Olarte (1946), проведенных с блохами Pulex irritans и Ctenocephalides canis при изучении возможности передачи через укус S. enteritidis.

Противоположные результаты получил Ващенок с соавторами (1971). В их опытах блохи X. cheopis при кормлении на больных животных заражались S. enteritidis (Gartner), но сохраняли их не более трех суток; причем передача возбудителя при питании зараженных блох на здоровых белых мышах происходила в течение суток и только в тех случаях, когда кормились большие группы блох. Однако Хрусцелевской с соавторами (1972) показано, что блохи X. cheopis, зараженные мышиным тифом через био-

мембрану, сохраняли возбудителя около месяца и передавали его при кровососании через пять дней после заражения. Очень важная особенность была прослежена авторами при инфицировании блох X. gerbilli minax смешанными популяциями салмонелл и чумного микроба. Инокуляция здоровым животным микробов обоих видов за счет блока, сформированного из этих возбудителей в преджелудках блох, позволяет рассматривать последних как специфических переносчиков салмонелл.

Противоречивость приведенных данных, вероятно, связана с неодинаковыми условиями опытов, но существенной причиной может служить также правильность определения видовой принадлежности использованных штаммов салмонелл и степень их вирулентности.

Для изучения возможности участия блох *C. consimilis* в хранении возбудителя тифа грызунов нами был взят высоковирулентный штамм S. typhimurium, идентифицированный по схеме Кауфман—Уайта (Кауфман, 1959).

МАТЕРИАЛ И МЕТОЛИКА

Эксперименты проводились с вирулентным (Dlm=100 м. к.) штаммом S. typhimurium № 2752, полученным из республиканской ветеринарной лаборатории г. Фрунзе. Блох *C. consimilis*, выплодившихся за 2—4 суток до заражения, инфицировали кормлением через капилляр микропипетки с использованием аппарата конструкции А. Н. Алексеева (1965) и через биомембрану по методике, описанной Алексеевым с соавторами (1967) и нами (Алексеев с соавторами, 1971; Гребенюк с соавторами, 1972).

Всего индивидуально было заражено 150 и через биомембрану 250 особей. Температура помещения, в котором содержали блох, колебалась от 23 до 32° .

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В табл. 1 приведены результаты заражаемости блох и сохранения салмонелл при условии поглощения различного количества микробов. Как видно из табл. 1, введение в блоху как малых, так и больших доз микробов не сопровождалось их интенсивным отмиранием или полным выведением из организма насекомого. В течение всего срока наблюдений статистических различий в снижении числа инфицированных особей, за исключением средней дозы заражения, не отмечено. Вместе с тем при малой (сотни м. к.) и большой (сотни тыс. м. к.) дозах заражения в первые часы после введения микробов размножение бактериальной популяции задерживалось и даже несколько снижалось, и лишь через 12 часов содержание S. typhimurium увеличивалось (рис. 1). Особенно высокий уровень зараженности блох был отмечен на средней дозе (рис. 1, 2). Однако, спустя 24 часа после заражения, количество микробов падало значительно ниже

Таблица 1
Заражаемость и сохранение S. typhimurium блохами C. consimilis

Доза заражения (в м. к.)	Число зараженных блох через разные интервалы							
	от 0 до 6 час.		от 12 до 48 час.		от 5 до 20 суток			
	число блох в опытах	число зара- женных осо- бей (в %)	число блох в опытах	число зара- женных осо- бей (в %)	число блох в опытах	число зара- женных осо- бей (в º/ ₀)		
От 100 до 500 От 10 тыс.	18	88.8	24	91.6		_		
до 50 тыс. От 100 тыс.	15	100.0	32	87.5	10	70.0		
до 500 тыс.	17	76.4	26	76.9	8	87.5		

 $^{^1}$ Культуру блох мы получили из Среднеазиатского противочумного института и поддерживали на белых мышах.

исходного уровня. Интересен тот факт, что через двое суток бактериальная популяция вновь восстанавливалась, несмотря на то что блохи в течение этого периода были голодными. Это, по-видимому, можно объяснить либо приживанием клеток, способных размножаться в истощенной среде кишечника, либо их проникновением в гемолимфу насекомого. При исследовании блох после их питания титры, как правило, были значительно выше исходных и достигали — 5—10 млн м. к. и более.

Исходя из определения специфичности отношений между переносчиком и возбудителем на основании наличия оптимальных заражающих доз (Алексеев, 1968), мы графически представили максимальное содержание салмонелл в различные периоды титрации блох. Как видно из рис. 2,

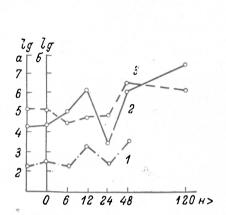


Рис. 1. Содержание салмонелл (в среднем) в блохах через разные промежутки времени после заражения.

По оси абсиисс — время после заражения (в час.); по оси ординат — число микробов: a — расчетное (по стандарту), введенное блохе; b — выделенное из блох. b — заражение блох сотнями микробных клеток; b — тысячами м. к.; b — сотнями тысяч м. к.

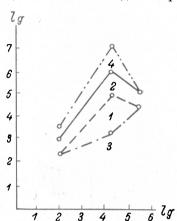


Рис. 2. Максимальное количество салмонелл, выделенное из блох *C. consimilis* через разные периоды времени в зависимости от дозы заражения.

По оси абсиисс — число салмонелл в заражающей дозе; по оси ординат — число салмонелл в блохах. 1 — через 6 час.; 2 — через 12 час.; 3 — через 24 час.; 4 — через 5 и более суток.

налицо оптимальная $(2-10^4)$ доза, при которой через 6, 12 часов, 5 и более суток после заражения обнаружено размножение микробов, достигшее максимальной концентрации (рис. 2, 1, 2, 4). Эти данные позволяют нам высказаться в пользу взаимной адаптированности S. typhimurium и блох S. consimilis. Однако настораживает двувершинность кривых (рис. 1), количественный же спад микробов через 24 часа возможен за счет качественной перестройки приспособительных механизмов бактерий к условиям существования в организме блох. Это предположение не противоречит возрастанию титра в последующих сроках исследования насекомых.

Несмотря на столь интенсивную концентрацию возбудителя, нам не удалось отметить образования блока в преджелудке блох, хотя и были случаи отказа особей от питания кровью. Кроме того, блохи с темным содержимым в преджелудке и средней кишке часто не могли осуществить кровососания, хотя и делали многократные попытки. Во время прокола кожи хоботком кишечник блох усиленно сокращался, а поступление крови в него не происходило. Некоторые особи вскоре после неудачных попыток кровососания погибали и при посеве из них выделялось множество (до миллиона и более) микробных клеток салмонелл.

Питание на мышах блох, содержащих массивные дозы возбудителя, предполагало возможность инокуляции инфекта, как это происходило в наших опытах с листериями (Гребенюк и др., 1971). Однако передача салмонелл произошла лишь в двух случаях из 13 — через один и девять суток после заражения (табл. 2). Мышь, зараженная при укусе блох,

хранивших салмонелл в течение 9 суток, пала на 10-й день после ее отсадки. При вскрытии печень мыши имела затупленные края, была полнокровной и увеличенной. Салмонелл удалось выделить из сердца, печени и почек. РА с поливалентной и монорецепторными ОН сыворотками, а также биохимические свойства выделенных культур соответствовали исходному штамму. Отмечена лишь одна особенность. Субкультуры, полученные из блох, утратили агглютинабильность с рецептором 5, хотя исходный штамм обладал этим свойством. Аналогичная реакция отмечена и у субкультур, выделенных от мышей; при этом возбудитель не восстанавливал данного свойства, находясь в течение 10 суток в организме животного.

Таблица 2 Исследование биопробных мышей после кормления на них зараженных блох *C. constmitis*

Порядок питания блох на мышах после заража- ющего кормления	Количе- ство суток после заража- ющего кормле- ния	20 9	гыс.	200 тыс.		
		число питав- шихся блох	число заражен- ных мышей к числу биопроб- ных	число питав- шихся блох	число зара- женных мышей к чис лу биопроб- ных	
1-е	0	10	0/1	8	1/1	
2-e		8	0/1	6	0/1	
3-е	2 5	7	0/1	6	0/1	
4-e	8	7	0/1	3	1/1	
5-e	10	4	0/1			
6-e	13	6	0/1	-	-	
7-e	15	5	0/1	-	-	
8-e	18	4	0/1	-	_	
Всего за- ражено			0/8		2/5	

Первый подкорм блох, зараженных 200 тыс. м. к., производили через сутки после заражения через капилляр, в дальнейшем — через каждые 2—3 дня.

Передача возбудителя мышам блохами через укус в столь отдаленный срок (на девятые сутки после заражения) позволяет высказать мнение об отсутствии чисто механической инокуляции салмонелл и наличии безблоковой отрыжки. Кроме того, одним из способов передачи салмонелл блохами возможен механизм специфической контаминации, поскольку насекомые способны с экскрементами выделять во внешнюю среду огромное количество инфекта. Как показали наши исследования, одна блоха выпеляла с фекалиями от двух десятков до 50 тыс. м. к.; при этом возбудитель сохранялся в пробирке (в песке) в течение 10-15 суток после удаления из нее зараженной блохи. Отмечено, что инфицированными выделениями блох питаются их личинки. При посеве на питательные среды и введении биопробным животным суспензии из двух проб (по 200 экз.) личинок результаты были положительными. Партию личинок, содержащих в своем организме возбудителя, мы отсадили для определения передачи его взрослым насекомым. Посевы и биопробы из выплодившихся 250 блох не дали положительных результатов.

выводы

1. В условиях индивидуального дозированного кормления и через биомембрану блохи $C.\ consimilis$ воспринимают S. typhimurium, длительно (23 дня) сохраняют в своем организме, выделяют возбудите-

ля во внешнюю среду и способны передавать здоровым мышам при укусе.

- 2. Интенсивное размножение микробов при заражении средней дозой $(2\cdot 10^4 \text{ м. к.})$ свидетельствует о некоторых специфических чертах взаимной адаптации S. typhimurium и блох C. consimilis.
- 3. Феномен заражения личинок инфицированными испражнениями взрослых блох является основанием для дальнейшего изучения трансфазовой передачи салмонелл этими насекомыми.

Литература

Алексеева А. Н. 1965. Принудительное дозированное кормление насекомых. Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 4:467—471.

Алексеев А. Н. 1968. Susceptibility of vectors to the mean doses of pathogenic agents as a criterium of their mutual adaptations. Abstr. of Papers XIII Intern. Congr. of Entomol., M:7.

Алексеев А. Н., Бибикова В. А. и Хрусцелевская Н. М. 1967. Методика индивидуального дозированного заражения блох микробами чумы. Паразитол., 1 (2):176—179.

Алексеев А. Н., Гребенюк Р. В., Чиров П. А. и Кадышева А. М. 1971. О взаимоотношениях возбудителя листериоза (Listeria monocytogenes) и кровососущих блох. Паразитол., 5 (2):113—118.

топосуtogenes) и кровососущих блох. Паразитол., 5 (2): 113—118.
Ващенок В. С., Солина Л. Т., Бакулина Л. И., Ващенок Г.И., Гурьянова Л. И. и Рогозина М. И. 1971. О способности блох Xenopsylla cheopis Roths. сохранять и передавать Salmonella enteritidis (Gärt-

пет). Паразитол., 5 (1): 15—19. Гребенюк Р. В., Алексеев А. Н., Чиров П. А. и Кадышева А. М. 1971. Блохикак возможные переносчики возбудителя листериоза. Пробл. особо опасных болезней. Саратов, 4 (20): 115—120.

Проол. особо опасных болезнеи. Саратов, 4 (20): 115—120.
И о ф Ф И. Г. 1941. Вопросы экологии блох в связи с их эпидемиологическим значением. Пятигорск: 3—115.
И о ф Ф И. Г. и П о к р о в с к а я М. П. 1933. О судьбе бацилл сусликового тифа в организме блох. Тр. Всесоюзн. инст. сельскохоз. микробиол., 5: 222—230.
К а у ф м а н Ф. 1959. Семейство кишечных бактерий. М.: 25—125.
Х р у с ц е л е в с к а я Н. М., Б и б и к о в а В. А., С т у л и н а В. И. и Ф е д о р о в а В. И. 1971. К способности блох хранить и передавать возбудителя с полимента в матер. УИ научи кооф противорумных учрожи. Спедней

Федорова В. И. 1971. К спосооности олох хранить и передавать вообудителя салмонеллеза. Матер. VII научн. конф. противочумных учрежд. Средней Азии и Казахстана, Алма-Ата: 185—187.

Ескеу С. R., Prince F. M. a. Fuller F. B. 1949. Transmission of Salmonella enteritidis by the rat fleas Xenopsylla cheopis and Nosopsylla fasciatus Public. Health Reports (U. S.), 64 (30): 933—941.

I off I. G., Pokrowskaja M. P. 1935. Über das Schicksal der Bacillen des Zieseltyphus im Organismus der Flöhe Zeitchr. Hyg. Infectioskr., 116: 248-272.
Varela G., Olarte J. 1946. A transmission of Salmonella enteritidis by Pulex irritans and Ctenocephalides canis. Science, 104 (2692): 104-105.

ON ADAPTABILITY OF SALMONELLA TYPHIMURIUM TO THE ORGANISM OF FLEAS (CERATOPHYLLUS CONSIMILIS WAGN.)

R. V. Grebenjuk, P. A. Chirov and A. M. Kadysheva

SUMMARY

Tests on the infection of the flea C. consimilis with Salmonella typhimurium established a long (23 days) preservation period of microbes, their reproduction and transmission to healthy white mice through a bite.